

УДК 615.277.3.038:616-097

*L. V. Manzyuk¹, E. V. Artamonova¹, T. A. Karmakova², R. I. Yakubovskaya¹***RESULTS OF PHASE 1-2 CLINICAL STUDIES OF IMUTERAN***¹N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow**²Herzen Research Oncological Institute, Moscow***ABSTRACT**

Imuteran, the original russian drug, was prepared based on monoclonal ICO-25 antibody raised against epithelial mucin MUC-1 (CD229) by N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center jointly with Herzen Research Oncological Institute. Pre-clinical investigations demonstrated the high specificity and high anticancer activity of drug *in vivo* and *in vitro*. There was also mentioned the low toxicities of ICO-25. Phase I clinical study included 10 patients. Imuteran was given at a single dose from 5 mg - 100 % to 46,25 mg - 925 %. The basic side reaction was hypersensitivity reaction. 35 mg Imuteran (700 %), intravenous once per week, 4 treatments with premedication of dexametazon and dimedrol were used in phase II clinical study. At present 20 patients were entered in phase II clinical study. The 20 patients received a total of 26 treatment cycles. Response to treatment was evaluated in 16 patients. The disease regression was not observed. Median survival about 10 weeks (11,8+4,3 weeks) was detected in 6 (37,5 %) patients (breast cancer - 2, colorectal cancer - 2, saplings cancer - 2), disease progression was found in 10 (62,5 %) patients. The treatment was interrupted in 3 (15 %) patients because of high toxicity (allergic reaction - 2, colon paresis - 1). The study is continued.

Key words: imuteran, monoclonal antibody, phase I and II clinical study.

*Л. В. Манзюк¹, Е. В. Артамонова¹, Т. А. Кармакова², Р. И. Якубовская²***РЕЗУЛЬТАТЫ I-II ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ
ПРЕПАРАТА ИМУТЕРАН***¹ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва**²МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва***РЕЗЮМЕ**

Имутеран — оригинальный отечественный препарат, созданный совместно РОНЦ им. Н. Н. Блохина и МНИОИ им. П. А. Герцена на основе субстанции мышиных моноклональных антител ICO-25, полученных к эпитопу эпителиального муцина MUC-1 (CD229). Доклинические исследования продемонстрировали высокую специфичность, значительную противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* и низкую токсичность ICO-25. Клинические испытания Имутерана по I фазе проведены 10 больным распространенным опухолевым процессом. Проводилась эскалация разовых доз по модифицированной шкале Фибоначчи от стартовой (5 мг — 100 %) до максимальной (46,25 мг — 925 %). Основными побочными эффектами были реакции гиперчувствительности. Для II фазы клинических испытаний был рекомендован режим введения Имутерана по 35 мг (700 % стартовой дозы) в/в капельно 1 раз в нед — 4 введения с премедикацией дексаметазоном и димедролом. На настоящий момент в исследование по II фазе включены 20 больных, которым проведено 26 курсов лечения. Эффект оценен у 16 пациентов. Объективных регрессий не наблюдалось. Стабилизация длительностью 11,8+4,3 нед (медиана 10 нед) зарегистрирована в 37,5 % (6 из 16) случаев (рак молочной железы — 2, рак толстой кишки — 2, рак маточной трубы — 2), прогрессирование — в 62,5 % (10 из 16) случаев. Из-за токсичности (аллергические реакции — 2, парез кишечника — 1) лечение было прекращено у 15 % (3 из 20) больных. Исследование продолжается.

Ключевые слова: Имутеран, моноклональные антитела, I и II фаза, клинические испытания.

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы достигнут существенный прогресс в использовании препаратов, созданных на основе моноклональных антител (МКА), для лечения рака. Одним из таких лекарственных агентов является Имутеран — оригинальный отечественный препарат, созданный совместно в РОНЦ РАМН им. Н. Н. Блохина и МНИОИ им. П. А. Герцена.

Основное действующее вещество препарата Имутеран — мышинное моноклональное антитело ICO-25 — иммуноглобулин класса IgG1, полученное к эпителиоидному антигену MUC-1 (CD 229) [4]. Проведенные иммуногистохимические исследования показали, что MUC-1 с высокой частотой экспрессируется клетками злокачественных опухолей эпителиального происхождения. Так, МКА ICO-25 реагировали с клетками рака молочной железы в подавляющем большинстве случаев — 93,2%. Антиген локализовался как на мембране, так и в цитоплазме злокачественных клеток, а его экспрессия не зависела от гистологического типа опухоли [2]. Экспрессия антигена клетками нормальной молочной железы была незначительной (антиген локализовался только на апикальной части клеточной мембраны эпителия протоков). Такой же высокой частотой экспрессии MUC-1 характеризуются рак желудка, рак толстой кишки, рак яичников.

Моноклональные антитела ICO-25 реагировали не только с первичной опухолью, но и с метастатическими опухолевыми клетками в регионарных лимфоузлах и костном мозге больных [3]. Так, частота выявления метастазов в регионарные лимфоузлы превышала результаты стандартного патоморфологического исследования для рака молочной железы на 10,8 %, для рака желудка — на 27,2 %, причем наличие морфологически не определяемых микрометастазов при раке желудка коррелировало с прогрессированием заболевания при дальнейшем наблюдении [6]. Исследование костного мозга с помощью моноклональных антител ICO-25 позволяло выявить даже 1 раковую клетку на 1000000 гемопоэтических, а обнаружение опухолевых клеток в стерильном пунктате больных раком молочной железы коррелировало с увеличением частоты выявления метастазов в кости при дальнейшем наблюдении [1].

В эксперименте на модели гетеротрансплантата рака толстой кишки человека (штамм РТК-1) было показано, что внутривенное введение МКА ICO-25 приводит к торможению роста опухоли [7]. Токсикологические исследования показали, что Имутеран по классификации степени опасности острого и хронического токсического действия малоопасное вещество [5].

Высокая специфичность МКА ICO-25, низкий уровень экспрессии MUC-1 в нормальных тканях и высокое содержание антигена в раковых клетках, а также продемонстрированный на модели *in vivo* противоопухолевый эффект способствовали созданию и передаче в клинику Имутерана.

Лекарственная форма: стерильный раствор мышинных моноклональных антител ICO-25 в концентрации 5 мг/мл; во флаконе — 5 мл, 25 мг МКА ICO-25.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с решением Фармакологического комитета МЗ РФ в НИИ КО РОНЦ РАМН им. Н.Н.Блохина была проведена I фаза клинических испытаний препарата Имутеран в качестве противоопухолевого средства.

В исследование включены 10 больных различными злокачественными опухолями. Все больные имели диссеминированный, морфологически подтвержденный опухолевый процесс, возможности других методов специфического лечения были полностью исчерпаны. Распределение больных в зависимости от нозологии представлено в табл. 1.

Задачами I фазы клинических испытаний является определение разовой и максимально переносимой дозы препарата, режима введения и дозолимитирующей токсичности. Оценка побочных эффектов проводилась по критериям ВОЗ.

Таблица 1

Распределение больных, получавших Имутеран, в зависимости от нозологии (I-II фаза клинических испытаний)

I фаза	Число больных
Рак молочной железы	6
Метастазы из невыявленного первичного очага	2
Рак яичников	1
Рак тела матки	1
Всего	10
II фаза	
Рак молочной железы	6
Рак толстой кишки	5
Рак яичников	6
Рак маточной трубы	2
Зл. гетериног. опухоль яичников	1
Всего	20

В ходе I фазы проводилась эскалация разовых доз Имутерана по модифицированной шкале Фибоначчи. Стартовая разовая доза составила 5 мг. Имутеран растворяли в 250 мл изотонического раствора NaCl и вводили внутривенно капельно со скоростью 5 мл/мин в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни курса (1 раз в нед — 4 введения).

Схема эскалации разовых и суммарных доз Имутерана представлена в табл. 2.

В рамках проводимой программы лечение Имутераном по II фазе получили 20 больных диссеминированными злокачественными опухолями (см. табл. 1), у которых возможности других методов специфического лечения были полностью исчерпаны (в том числе проведено по 3 — 5 линий химиотерапии).

Метастазы в печень были выявлены в 45 % случаев (9 из 20), в лимфоузлы — в 35 % (7 из 20), в кости —

Таблица 2

Эскалация доз Имутерана по модифицированной шкале Фибоначчи (I фаза)

% от дозы	Разовая доза Имутерана, мг	Количество введений	Курсовая доза Имутерана	Количество больных
100	5	4	20	1
350	17,50	4	70	2
525	26,25	4	105	1
700	35,00	4	140	3
925	46,25	4	185	1
		1	46,25	2

в 20 % (4 из 20), в легкие — в 20 % (4 из 20, в 1 случае в сочетании с плевритом), диссеминация по брюшине — в 30 % (6 из 20), метастазы в мягкие ткани — в 10 % (2 из 20), рецидив в малом тазу — в 20 % случаев (4 из 20). Большинство больных (13 из 20) имели сочетанное поражение органов и систем (от 2 до 4).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении I фазы клинических испытаний 10 больных получили 10 курсов терапии Имутераном (всего 34 введения). 8 пациентам запланированное лечение проведено полностью, 2 — после 1-го введения Имутерана в дозе 925 % от первоначальной (46,25 мг) из-за развившихся осложнений лечение было прекращено.

Наблюдались следующие побочные реакции:

- озноб — во время инфузии, сразу по окончании инфузии или через несколько часов — у 60 % (6/10) больных при 32,4 % введений (11/34); у 3 пациенток озноб отмечен во время 1-го введения препарата в дозах 17,5 мг (1 больная) и 46,25 мг (2 больные); еще у 3 — при повторных введениях в дозе 26,25 мг (1 больная), 35 мг (1 больная) и 46,25 мг (1 больная);
- тошнота и однократная рвота — у 20 % (2/10) больных при 5,9 % введений (2/34);
- аллергические реакции (крапивница, отек Квинке) — у одной больной (10 %) при 1-м введении имутерана в дозе 46,25 мг — лечение прекращено;
- сильные боли в костях — у 1 больной (10 %) с метастазами в кости при 1-м введении имутерана в дозе 46,25 мг в сочетании с ознобом, подъемом АД — лечение прекращено;
- падение АД, ортостатический коллапс — у 2 больных (20 %) при 11,8 % введений (4/34);
- повышение АД — у 2 больных (20 %) при 8,8 % введений (3/34).

Таким образом, 2 из 10 пациенток (20 %) после 1-го введения Имутерана в дозе 46,25 мг (925 % от первоначальной) из-за побочных реакций лечение было прекращено.

Существенного влияния Имутерана на основные показатели периферической крови (гемоглобин, лейкоциты, тромбоциты), свертывающей системы (протромбиновое время, фибриноген, РКМФ этаноловый тест, толерантность плазмы к гепарину) и биохимию крови (глюкоза, креатинин, билирубин, общий белок, трансаминазы, щелочная фосфатаза) не отмечено.

При проведении I фазы программа эскалации доз была выполнена полностью. При введении Имутерана в дозе 46,25 мг (925 % от первоначальной) у 2 из 3 пациенток отмечены реакции, потребовавшие прекращения лечения.

Основными побочными эффектами Имутерана были реакции гиперчувствительности (озноб, коллапс, крапивница, отек Квинке).

Для II фазы клинических испытаний был рекомендован следующий режим лечения: Имутеран по 35 мг (700 % от стартовой дозы) внутривенно капельно 1 раз в нед 4 введения. Для профилактики реакций гиперчувствительности была рекомендована премедикация: дексаметазон 20 мг в/м, димедрол 1%-ный — 1,0 в/м за 30 мин до введения.

На 1-м этапе II фазы 7 пациентов получали лечение в следующем режиме: по 35 мг в/в капельно 1 раз в нед — 4 введения с последующим 3-нед перерывом.

В дальнейшем лечение осуществлялось еженедельно, без перерыва, до запланированного контрольного обследования.

Всего проведено 26 курсов лечения (23 полных и 3 неполных): 16 пациентов получили по 1 курсу, 3 — по 2 курса и еще 1 — 4 курса лечения Имутераном.

У 85 % больных (17 из 20) при проведении 23 курсов из 26 (88,5 %) осложнений не отмечено.

У 2 пациенток при проведении 1-го курса лечения на 2-м и 3-м введениях препарата соответственно развилась аллергическая реакция в виде бронхоспазма в сочетании с аллергическим дерматитом и бронхоспазма в сочетании с отеком Квинке. У одной пациентки в процессе проведения 1-го курса развился парез кишечника, имитирующий кишечную непроходимость, и произведено хирургическое вмешательство по месту жительства. Всего у 15 % больных (3 из 20) зарегистрирована неприемлемая токсичность, потребовавшая прекращения лечения, из анализа эффективности больные исключены.

Еще у 1 пациентки после повторного пересмотра гистологических препаратов установлен диагноз злокачественной герминогенной опухоли яичников, из анализа эффективности больная исключена, так как опухоли не-эпителиальной природы не содержат антигена MUC-1.

Эффективность Имутерана оценена у 16 больных из 19, результаты представлены в табл. 3.

У 10 из 16 оцененных больных отмечено прогрессирование болезни (62,5 %).

Объективных регрессий опухоли не наблюдалось.

У 6 из 16 больных (37,5 %) отмечалась стабилизация процесса при следующих заболеваниях: РМЖ — у 2 больных длительностью 15 нед и 9 нед; рак толстой кишки — у 2 больных длительностью по 9 нед; рак маточной трубы — у 2 больных длительностью 19 нед и 11 нед.

Средняя длительность стабилизации при лечении Имутераном составила $11,8 \pm 4,3$ нед, медиана — 10 нед. Следует отметить, что все 6 больных со стабилизацией лечения Имутераном начинали на фоне прогрессирования болезни.

Таблица 3

Эффективность Имутерана (II фаза клинических испытаний)

Диагноз	Число больных (оценено)	Число курсов (полных)	Эффект (оценены 16 больных)
Рак молочной железы	6 (4)	7 (5)	2/4 — стабилизация 15 и 9 нед 2/4 — прогрессирование 2 — не оценены (аллергическая реакция, лечение прекращено)
Рак толстой кишки	5 (5)	6 (6)	2/5 — стабилизация 9 и 9 нед 3/5 — прогрессирование 5/5 — прогрессирование
Рак яичников	6 (5)	6 (5)	1 — не оценена (парез кишечника — лечение прекращено)
Рак маточной трубы	2 (2)	6 (6)	2/2 — стабилизация 19 и 11 нед
Всего	19 (16)	25 (22)	6/16 (37,5%) — стабилизация 11,8±4,3 нед (медиана 10 нед) 10/16 (62,5%) — прогрессирование

Влияния препарата на показатели периферической крови, биохимию и свертывающую систему во время проведения II фазы клинических испытаний также не отмечено.

Специальные лабораторные исследования при II фазе клинических испытаний препарата Имутеран проводились в МНИОИ им. П. А. Герцена.

Как потенциальные критерии отбора пациентов для лечения оценивались следующие показатели:

1) относительное содержание субпопуляции лимфоцитов, характеризующее состояние эффективного звена иммунитета, непосредственно участвующего в реализации действия пассивной иммунотерапии;

2) содержание Муцина MUC-1 в крови больных, так как свободно циркулирующий антиген может связывать вводимые МКА и таким образом влиять на эффективность лечения.

Состояние лимфоцитарного звена иммунитета определяли по результатам фенотипирования мононуклеарных клеток периферической крови, выделенных из гепаринизированной венозной крови методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD3⁺ (общая субпопуляция лимфоцитов), CD4⁺ (Т-хелперы/индукторы), CD8⁺ (Т-киллеры/супрессоры), CD16⁺ (естественные киллеры), CD20⁺ (В-лимфоциты), CD25⁺ (лимфоциты, экспрессирующие рецептор и ИЛ-2) и антигену гистосовместимости HLA-DR.

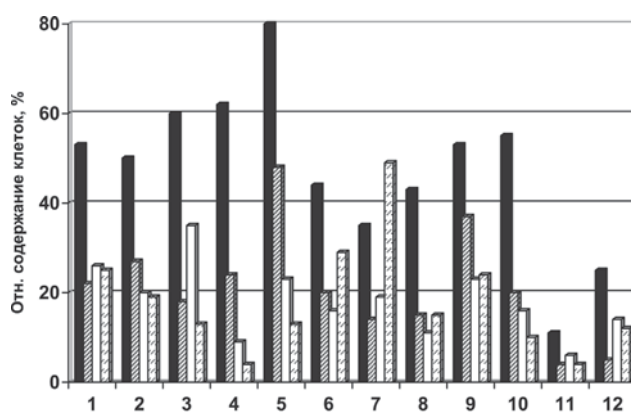
Обследованы 12 пациентов с различными злокачественными опухолями. Забор крови осуществлялся до начала лечения и перед каждым введением Имутерана. Особое внимание уделяли анализу состояния больных, у которых отмечались аллергические реакции на введение препарата.

До начала лечения у подавляющего большинства больных наблюдались нарушения различной степени выраженности. Динамика изменений показателей у отдельных больных была индивидуальной и часто разнонаправленной. Тем не менее анализ результатов позволил выявить некоторые закономерности:

1) у большинства больных (9 из 12) снижено относительное количество одной или нескольких Т-клеточных субпопуляций CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺. Длительность стабилизации процесса была менее продолжительной у больных с более выраженными нарушениями. У 2 больных с наиболее выраженной недостаточностью по Т-лимфоцитарному звену была получена аллергическая реакция при 1-м же введении препарата, чего не наблюдали у больных с более сохранной Т-клеточной популяцией.

2) у 5 из 12 больных до лечения было значительно повышено процентное содержание CD16⁺ клеток; у остальных — снижено незначительно или в пределах физиологической нормы. При этом у большинства больных, леченных без эффекта, в процессе динамического наблюдения количество CD16⁺ клеток существенно увеличивалось, в 1,5-3 раза превышая верхнюю границу физиологической нормы. У пациентов со стабилизацией процесса наблюдали либо умеренное повышение CD16⁺ клеток (как правило, после первого же введения Имутерана) с последующей нормализацией показателя, либо сохранение этого показателя в пределах нормы на протяжении всего курса лечения.

На рисунке представлены данные, характеризующие исходное состояние эффекторного звена иммунитета 12 больных.



Исходное состояние эффекторного звена иммунитета у 12 больных: ■ CD3+ ▨ CD4+ □ CD8+ ▤ CD16+

У 2 больных (11 и 12) после 1-го введения Имутерана отмечались выраженные аллергические реакции в виде падения артериального давления (АД), легкой формы отека Квинке, аллергической сыпи на коже. Таким образом, можно предположить, что сбалансированное состояние Т-клеточного звена иммунитета — благоприятный фон для реализации эффекта иммунотерапии, а острый дефицит, в частности, по Т-клеточной популяции, является фактором риска развития побочных реакций аллергического характера на фоне и сразу после введения препарата.

По-видимому, больным с выраженными нарушениями иммунного статуса целесообразно проведение иммунокоррекции перед назначением Имутерана.

Уровень содержания муцина MUC1 в крови пациентов определялся методом иммуноферментного анализа.

Стабилизация заболевания наблюдалась у больных с относительно низким количеством антигена в крови (сравнимым с его количеством у условно здоровых лиц или превышающим верхнюю границу этих значений не более, чем в 1,5 раза). Отсутствие эффекта иммунотерапии наблюдалось преимущественно у больных с относительно высоким содержанием антигена в кровотоке.

У 1 больной содержание MUC-1 в крови было настолько низким, что чувствительности метода не хватало для его количественной оценки. У данной пациентки было отмечено развитие аллергической реакции при 3-м введении Имутерана, и лечение было прекращено. Возможно, что отсутствие в кровотоке антигена, связывающего мышиные антитела, является фактором, увеличивающим интенсивность клеточного и гуморального ответа, и увеличивает риск возникновения нежелательных побочных эффектов.

В табл. 4 представлены данные о 12 больных, получавших Имутеран в РОНЦ РАМН и МНИОИ им. П. А. Герцена, отражающие уровень MUC-1 и результаты лечения.

Таблица 4

Взаимосвязь между уровнем антигена MUC-1 в крови и результатами лечения

Концентрация MUC-1, усл. ед.	Клиническая оценка состояния
98	Стабилизация 32 нед.
52	Стабилизация 32 нед.
166	Стабилизация 24 нед.
141	Стабилизация 19 нед.
36	Стабилизация 11 нед.
117	Прогрессирование
209	Прогрессирование
2312	Прогрессирование
19000	Прогрессирование
461	Прогрессирование
406	Прогрессирование
0	Анафилактическая реакция на 3 введении

Кроме MUC-1, у пациентов определяли показатель НАМА (human antiouse anti bodies), отражающий специфический ответ организма пациентов на введение мышиных антител (Имутеран).

Предварительные результаты проведенных исследований позволяют предположить, что высокий исходный уровень MUC-1 в крови (более 200 усл. ед.) и отсутствие детектируемого НАМА — ответа на фоне первых введений — являются факторами неблагоприятного прогноза в отношении эффективности лечения Имутераном.

ВЫВОДЫ

Оценивая результаты II фазы клинических испытаний Имутерана на ограниченном числе больных, необходимо отметить:

1) препарат может сдерживать прогрессирование болезни, давая стабилизацию у трети больных с диссеминированными злокачественными эпителиальными опухолями, такими, как рак маточной трубы, рак молочной железы и толстой кишки;

2) у части больных (10-15 %), несмотря на проведение премедикации, возникают тяжелые побочные реакции гиперчувствительности, вероятно, обусловленные тем, что Имутеран является препаратом нативных мышиных моноклональных антител, к которым быстро образуются нейтрализующие антитела. Возникновение таких реакций затрудняет клинические испытания;

3) выраженные нарушения исходного иммунного статуса и высокий уровень MUC-1 в крови пациентов, по-видимому, обуславливают отсутствие эффекта при лечении Имутераном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артамонова Е. В., Паниченко А. В., Рязанцева С. Н. и др. Моноклональные антитела в диагностике метастазов рака молочной железы // IX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». — Москва, 8 — 12 апреля 2002 г. — С. 29.
2. Артамонова Е. В., Тупицын Н. Н., Кадагидзе З. Г. и др. Роль эпителиальных антигенов в диагностике и стадировании рака молочной железы // Архив патологии. — 2002. — Т. 64, № 6. — С. 13–15.
3. Артамонова Е. В., Овсянников С. В., Тупицын Н. Н. и др. Иммунологическая диагностика метастазов рака молочной железы и рака желудка в лимфатические узлы // Врач. — 2003. — № 1. — С. 34–36.
4. Барышников А. Ю. Моноклональные антитела в биотерапии рака // Мат. I всерос. научно-практ. конф. «Биотерапия рака». — Москва, 18-20 июня 2002 г. — С. 15–17.
5. Кармакова Т. А., Немцова Е. Р., Безбородова О. А. и др. Имутеран — новый препарат для иммунотерапии рака // Мат. I всерос. научно-практ. конф. «Биотерапия рака». — Москва, 18-20 июня 2002 г. — С. 33–35.
6. Овсянников С. В., Давыдов М. И., Тупицын Н. Н. и др. Иммуноморфологическое обоснование расширенных лимфодиссекций при раке желудка // Онкология и радиология Казахстана. — 2002. — Т. 1, № 2. — С. 42–48.
7. Karmakova T., Bezborodova O., Nemtsova E., Yakubovskaya R. Antitumor efficiency of monoclonal antibody in therapy of nude mice with xenograft of human colon carcinoma // Proceed. 10th NCI-EORTC Symp. On New Drugs in cancer therapy. — Amsterdam, 1998. — P. 88.

Поступила 17.03.2006.